

# BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

## COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 13 SEP. 2004

Pour le Directeur général de l'Institut  
national de la propriété industrielle  
Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE

DOCUMENT DE PRIORITÉ

PRÉSENTÉ OU TRANSMIS  
CONFORMÉMENT À LA  
RÈGLE 17.1.a) OU b)

INSTITUT  
NATIONAL DE  
LA PROPRIÉTÉ  
INDUSTRIELLE

SIEGE  
26 bis, rue de Saint-Petersbourg  
75800 PARIS cedex 08  
Téléphone : 33 (0)1 53 04 53 04  
Télécopie : 33 (0)1 53 04 45 23  
www.inpi.fr

Best Available Copy

# BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITÉ

Code de la propriété intellectuelle - Livre VI

16 bis, rue de Saint Pétersbourg - 75800 Paris Cedex 08

Pour vous informer : INPI DIRECT

N° Indigo 0 825 83 85 87

0,15 € TTC/mn

Télécopie : 33 (0)1 53 04 52 65

Réservé à l'INPI

## REQUÊTE EN DÉLIVRANCE page 1/3

BR1

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 540 @ W / 030103

REMISE DES PIÈCES

DATE

4 SEPT 2003

LIEU

75 INPI PARIS

N° D'ENREGISTREMENT

0310460

NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI

DATE DE DÉPÔT ATTRIBUÉE

PAR L'INPI

0 4 SEP. 2003

Vos références pour ce dossier

(facultatif) 240705 D21334 AD

1 NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE  
À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE

Cabinet REGIMBEAU  
20, rue de Chazelles  
75847 PARIS CEDEX 17  
FRANCE

Confirmation d'un dépôt par télécopie

☐ N° attribué par l'INPI à la télécopie

2 NATURE DE LA DEMANDE

Cochez l'une des 4 cases suivantes

Demande de brevet

☒

Demande de certificat d'utilité

☐

Demande divisionnaire

☐

*Demande de brevet initiale*

N°

Date

*ou demande de certificat d'utilité initiale*

N°

Date

Transformation d'une demande de  
brevet européen *Demande de brevet initiale*

☐

N°

Date

3 TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)

Utilisation de composés dérivés d'ellipticine et d'aza-ellipticine pour la préparation d'un médicament utile pour le traitement de maladies génétiques résultant de l'altération des processus d'épissage

4 DÉCLARATION DE PRIORITÉ

OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE

LA DATE DE DÉPÔT D'UNE

DEMANDE ANTÉRIEURE FRANÇAISE

Pays ou organisation

Date

N°

Pays ou organisation

Date

N°

Pays ou organisation

Date

N°

☐ S'il y a d'autres priorités, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»

5 DEMANDEUR (Cochez l'une des 2 cases)

☒ Personne morale ☐ Personne physique

Nom  
ou dénomination sociale

CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
(CNRS)

Prénoms

Forme juridique

N° SIREN

Code APE-NAF

ETABLISSEMENT PUBLIC A CARACTERE SCIENTIFIQUE ET  
TECHNOLOGIQUE

304981310

Domicile  
ou  
siège

Rue

3, rue Michel Ange 75016 PARIS

Code postal et ville

Pays

FRANCE

Française

N° de télécopie (facultatif)

Nationalité

N° de téléphone (facultatif)

Adresse électronique (facultatif)

☐ S'il y a plus d'un demandeur, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»

Remplir impérativement la 2<sup>ème</sup> page

**BREVET D'INVENTION  
CERTIFICAT D'UTILITÉ**

**REQUÊTE EN DÉLIVRANCE**  
page 2/3

**BR2**

REMISE DES PIÈCES	
DATE	4 SEPT 2003
LIEU	75 INPI PARIS
N° D'ENREGISTREMENT	0310460
NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI	

DB 540 W / 030103

<b>6 MANDATAIRE (s'il y a lieu)</b>	
Nom	240705 D21334 AD
Prénom	
Cabinet ou Société	Cabinet REGIMBEAU
N° de pouvoir permanent et/ou de lien contractuel	
Adresse	Rue 20, rue de Chazelles Code postal et ville 75847 PARIS CEDEX 17 Pays
N° de téléphone (facultatif)	01 44 29 35 00
N° de télécopie (facultatif)	01 44 29 35 99
Adresse électronique (facultatif)	info@regimbeau.fr
<b>7 INVENTEUR (S)</b>	
Les inventeurs sont nécessairement des personnes physiques	
Les demandeurs et les inventeurs sont les mêmes personnes	<input type="checkbox"/> Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non : Dans ce cas remplir le formulaire de Désignation d'inventeur(s)
<b>8 RAPPORT DE RECHERCHE</b>	
Uniquement pour une demande de brevet (y compris division et transformation)	
Établissement immédiat ou établissement différé	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Paiement échelonné de la redevance (en deux versements)	Uniquement pour les personnes physiques effectuant elles-mêmes leur propre dépôt <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
<b>9 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES</b>	
Uniquement pour les personnes physiques <input type="checkbox"/> Requête pour la première fois pour cette invention (joindre un avis de non-imposition) <input type="checkbox"/> Obtenue antérieurement à ce dépôt pour cette invention (joindre une copie de la décision d'admission à l'assistance gratuite ou indiquer sa référence) : AG	
<b>10 SÉQUENCES DE NUCLEOTIDES ET/OU D'ACIDES AMINÉS</b>	
<input type="checkbox"/> Cochez la case si la description contient une liste de séquences	
Le support électronique de données est joint	<input type="checkbox"/>
La déclaration de conformité de la liste de séquences au format indiqué dans le formulaire de demande est jointe	<input type="checkbox"/>

**REQUÊTE EN DÉLIVRANCE**

Page suite N° 3. / 3.



Réservé à l'INPI

REMISE DES PIÈCES

DATE

**4 SEPT 2003**

LIEU

**75 INPI PARIS**

N° D'ENREGISTREMENT

NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI

**0310460**

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 829 W / 011001

<b>Vos références pour ce dossier (facultatif)</b>		<b>240705 D21334 AD</b>	
<b>4 DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE FRANÇAISE</b>		Pays ou organisation	
		Date	
		Pays ou organisation	
		Date	
		Pays ou organisation	
		Date	
<b>5 DEMANDEUR (Cochez l'une des 2 cases)</b>		<input checked="" type="checkbox"/> <b>Personne morale</b> <input type="checkbox"/> <b>Personne physique</b>	
Nom ou dénomination sociale		UNIVERSITE MONTPELLIER II	
Prénoms			
Forme juridique		ETABLISSEMENT PUBLIC A CARACTERE SCIENTIFIQUE,	
N° SIREN		CULTUREL, PROFESSIONNEL	
Code APE-NAF			
Domicile ou siège	Rue	Place Eugène Bataillon, 34095 Montpellier Cedex 5	
	Code postal et ville		
	Pays		
Nationalité		FRANCE	
N° de téléphone (facultatif)		Française	
N° de télécopie (facultatif)			
Adresse électronique (facultatif)			
<b>5 DEMANDEUR (Cochez l'une des 2 cases)</b>		<input type="checkbox"/> <b>Personne morale</b> <input type="checkbox"/> <b>Personne physique</b>	
Nom ou dénomination sociale			
Prénoms			
Forme juridique			
N° SIREN			
Code APE-NAF			
Domicile ou siège	Rue		
	Code postal et ville		
	Pays		
Nationalité			
N° de téléphone (facultatif)			
N° de télécopie (facultatif)			
Adresse électronique (facultatif)			
<b>10 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire)</b>		<b>VISA DE LA PRÉFECTURE OU DE L'INPI</b>	

L'invention se rapporte à une nouvelle utilisation de composés dérivés d'ellipticine et d'aza-ellipticine pour la préparation d'un médicament utile pour le traitement de maladies génétiques résultant de l'altération des processus d'épissage.

Les composés dérivés d'ellipticine et d'aza-ellipticine sont déjà connus en tant que molécules intercalantes pour corriger le dysfonctionnement de l'expression génétique, notamment la réplication. Elles ont été plus spécifiquement décrites pour le traitement de maladies telles que le cancer, la leucémie et le SIDA (FR 2 627 493, FR 2 645 861, FR 2 436 786).

Le processus d'épissage intracellulaire consiste à éliminer les introns des ARN pré-messagers de façon à produire un ARN messager mature exploitable par la machinerie de traduction de la cellule (Sharp, P.A. (1994). Split genes and RNA splicing. *Cell* 77, 805-815). Dans le cas d'épissages alternatifs, un même précurseur peut être à l'origine d'ARN messagers codant pour des protéines ayant des fonctions distinctes (Black, D.L. Mechanisms of Alternative Pre-Messenger RNA Splicing. *Annu.Rev.Biochem.*2003.In press). La sélection précise des sites d'épissage 5' et 3' est donc un mécanisme générateur de diversité et peut conduire à une régulation de l'expression des gènes en fonction du type de tissu ou au cours du développement d'un organisme. Parmi les facteurs impliqués dans cette sélection, on trouve une famille de protéines appelées SR, caractérisées par la présence d'un ou deux domaine(s) de liaison à l'ARN de type-RRM et un domaine riche en résidus arginine et sérine appelé domaine RS (Manley, J.L. and Tacke, R. (1996). SR proteins and splicing control. *Genes Dev.* 10, 1569-1579). En se fixant sur de courtes séquences exoniques ou introniques du pre-mRNA, appelées ESE (Exonic Splicing Enhancer) ou ISE (Intronic Splicing Enhancer), les protéines SR sont capables d'activer, de façon dose-dépendante, des sites d'épissages suboptimaux et de permettre l'inclusion d'exons (Graveley, B.R. Sorting out the complexity of SR protein functions. *EMBO J.* 1997 16:1119). Illustrés ci-dessous, certains T. sont

forme de variants d'épissage alternatif (Ewing, B. and Green, P. Analysis of expressed sequence tags indicates 35,000 human genes. *Nat.Genet.*2000. 25, 232-234). Ce mécanisme est donc une cible privilégiée d'altérations qui peuvent affecter les facteurs impliqués dans la régulation de l'épissage et de mutations qui touchent les séquences nécessaires à cette régulation. A l'heure actuelle, on estime qu'environ 50 % des mutations ponctuelles responsables de maladies génétiques induisent un épissage aberrant. Ces mutations peuvent interférer avec l'épissage en inactivant ou en créant des sites d'épissage, mais aussi en modifiant ou en générant des éléments régulateurs de type « Splicing Enhancer » ou « Splicing Silencer » dans un gène particulier (Cartegni, L. et al., Listening to silence and understanding nonsense: exonic mutations that affect splicing. *Nat.Rev.Genet.*2002. 3, 285-298).

Les stratégies actuellement développées pour corriger ces défauts d'épissage reposent sur l'utilisation de différents types de molécules.

Une stratégie visant au développement de nouvelles molécules permettant de corriger ou d'éliminer les épissages anormaux reposent par exemple sur la surexpression de protéines qui interfèrent avec ce type d'épissage (Nissim-Rafinia, M. et al., Cellular and viral splicing factors can modify the splicing pattern of CFTR transcripts carrying splicing mutations. *Hum.Mol.Genet.*2000. 9, 1771-1778 ; Hofmann, Y. et al., Htra2-beta 1 stimulates an exonic splicing enhancer and can restore full-length SMN expression to survival motor neuron 2 (SMN2). *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.*2000. 97, 9618-9623).

Une autre stratégie repose sur l'utilisation d'oligonucléotides antisens (Sazani, P. et al., Systemically delivered antisense oligomers upregulate gene expression in mouse tissues. *Nat.Biotechnol.*2002. 20, 1228-1233 ; Sazani, P. and Kole, R. Modulation of alternative splicing by antisense oligonucleotides. *Prog.Mol.Subcell.Biol.*2003. 31, 217-239) ou de PNA (Cartegni, L. et al., Correction of disease-associated exon skipping by synthetic exon-specific activators. *Nat.Struct.Biol.*2003. 10, 120-125) permettant respectivement d'inhiber ou d'activer un évènement d'épissage.

Une autre stratégie encore repose sur l'identification de composés qui influencent l'efficacité d'épissage du pré-mRNA d'intérêt (Andreassi, C. et al., Aclarubicin treatment restores SMN levels to cells derived from type I spinal

muscular atrophy patients. Hum.Mol.Genet.2001. 10, 2841-2849).

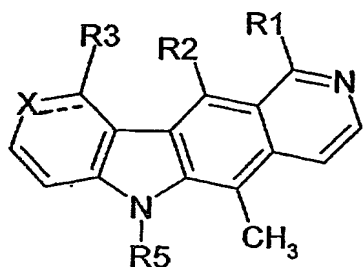
Enfin, une stratégie basée sur l'utilisation de l'épissage en trans pour remplacer des exons mutés a été décrite (Liu, X. et al., Partial correction of endogenous DeltaF508 CFTR in human cystic fibrosis airway epithelia by spliceosome-mediated RNA trans-splicing. Nat.Biotechnol. 2002. 20, 47-52).

Un des inconvénient des stratégies développées et citées ci-avant pour corriger ou éliminer les épissages anormaux est leur coût de production. En effet, le coût de production des oligonucléotides antisens qui doivent être modifiés pour améliorer leur stabilité ou encore celui des molécules de type PNA est élevé.

Un autre inconvénient des stratégies développées et citées ci-avant est qu'elles requièrent l'utilisation de vecteurs d'expression, comme par exemple pour la stratégie basée sur l'utilisation de l'épissage en trans.

Les inventeurs se sont donnés pour but de trouver d'autres molécules ayant la capacité d'inhiber les processus d'épissage des ARN pré-messagers, et ne présentant pas les inconvénients des molécules de l'art antérieur.

Ainsi la présente invention concerne l'utilisation de composés dérivés d'ellipticine et/ou d'aza-ellipticine correspondant à la formule I suivante :



Formule I

dans laquelle :

.....

==

de C1 à C3 lui-même éventuellement substitué par un groupement phényle,

R1 représente :

- un atome d'hydrogène ou d'halogène sélectionné dans le groupe F, Cl, Br et I,

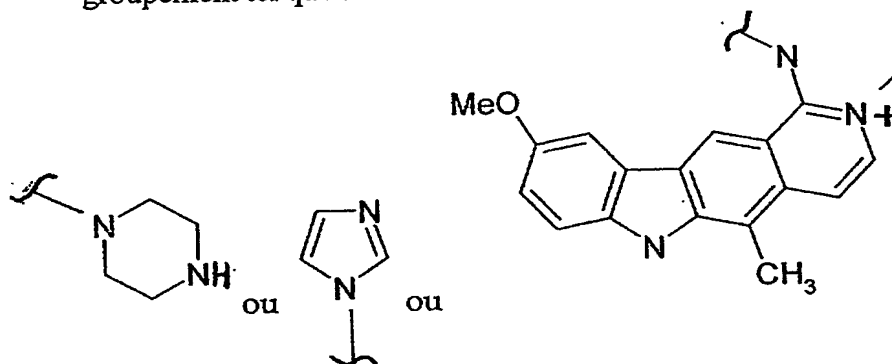
ou

- 5
- un groupement  $-N-R_6R_7$ ,

où R6 représente un atome d'hydrogène ou un groupement alkyle de C1 à C3, et

R7 représente :

- 10
- un cycle en C6, saturé ou insaturé, comportant éventuellement un atome d'azote, et éventuellement substitué par un ou plusieurs groupements alkyles en C1 à C3, ou
  - un groupement alkyle de C1 à C6 linéaire éventuellement substitué par un groupement tel que :



15

ledit groupement étant éventuellement substitué par un groupement alkyle en C1 à C3 lui-même éventuellement substitué par un groupement amine,

- un groupement  $-NH-R_8$

où R8 représente un groupement alkyle-Y-R9R10

20

où le groupement alkyle représente un groupement de C1 à C4 éventuellement insaturé et Y représente un atome de carbone ou d'azote et R9 et R10 représentent chacun indépendamment un atome d'hydrogène ou un groupement alkyle en C1 à C4 éventuellement substitué par un ou plusieurs groupements hydroxyle et/ou oxo, ou

25

- un groupement  $-C=N-OH$  ou  $-O-C(=O)(CH_3)$ ,

R2 représente un atome d'hydrogène, un groupement méthyle ou un groupement  $\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ,

R3 et R5 représentent chacun indépendamment l'un de l'autre un atome d'hydrogène ou un groupement méthyle ou méthoxyméthyle, et

- 5 les sels pharmaceutiquement acceptables desdits composés, leurs isomères et/ou mélanges de ceux-ci,

pour la préparation d'un médicament utile pour le traitement de maladies génétiques résultant de l'altération des processus d'épissage.

- Le premier avantage lié à l'utilisation de dérivés d'ellipticine selon  
10 l'invention pour corriger les défauts d'épissage est d'ordre financier. En effet, le coût de production de ces molécules est bien inférieur à celui des oligonucléotides antisens ou encore à celui des molécules hybrides de type PNA.

- Le second avantage des dérivés d'ellipticine selon l'invention tient à leur facilité d'administration et au fait que cette stratégie de traitement ne requiert pas  
15 l'utilisation de vecteurs d'expression.

- La pénétration des molécules selon l'invention à l'intérieur des cellules et leur ciblage vers des tissus particuliers peuvent être effectués soit en utilisant des polymères (Uekama, K. et al., Cyclodextrins in drug carrier systems. Crit.Rev.Ther.Drug Carrier.Syst. 1987. 3, 1-40) soit des vecteurs tels que peptides  
20 ou lipides (Prochiantz, A. Getting hydrophilic compounds into cells: lessons from homeopeptides. Curr.Opin.Neurobiol. 1996. 6, 629-634 et Vives, E. et al., A truncated HIV-1 Tat protein basic domain rapidly translocates through the plasma membrane and accumulates in the cell nucleus. J.Biol.Chem. 1997. 272, 16010-16017) ou soit encore des particules telles que les nanoparticules et les liposomes  
25 (Douglas, S.J. et al., Nanoparticles in drug delivery. Crit.Rev.Ther.Drug Carrier.Syst. 1987. 3, 233-261 et Gragoriadis, G. et al., Liposomes in drug delivery. Crit.Rev.Ther.Drug Carrier.Syst. 1987. 3, 263-291).

Dans un mode de réalisation encore plus préférentiel, les processus d'épissage sont soit constitutifs et/ou soit dépendants de séquences régulatrices ESE.

- Dans un mode de réalisation préférentiel de l'utilisation des composés selon
- 5 l'invention, lorsque X représente CR<sub>4</sub>,
- R<sub>1</sub> représente un groupement -N-HR<sub>7</sub> où R<sub>7</sub> représente une pipéridine, ou un groupement -N-R<sub>8</sub> où R<sub>8</sub> représente un groupement propyl-N-R<sub>9</sub>R<sub>10</sub>, ou un groupement -C=N-OH ou -O-C(=O)(CH<sub>3</sub>),
- R<sub>2</sub> représente un groupement méthyle,
- 10 R<sub>3</sub> représente un atome d'hydrogène,
- R<sub>4</sub> représente un groupement hydroxyle ou un atome d'oxygène substitué par un groupement méthyle lui-même éventuellement substitué par un groupement phényle, et
- R<sub>5</sub> représente un atome d'hydrogène ou un groupement méthyle.

- 15 Dans un autre mode de réalisation préférentiel de l'utilisation des composés selon l'invention, lorsque X représente N,
- R<sub>1</sub> représente un atome de chlore ou un groupement -N-R<sub>8</sub> où R<sub>8</sub> représente un groupement propyl-N-R<sub>9</sub>R<sub>10</sub>,
- R<sub>2</sub> représente un atome d'hydrogène ou un groupement méthyle, et
- 20 R<sub>3</sub> et R<sub>5</sub> représentent un atome d'hydrogène, et
- R<sub>4</sub> représente un atome d'hydrogène ou un groupement méthyle.

Dans un mode de réalisation très préférentiel selon l'invention, le composé est choisi dans le groupe constitué par :

- la N'-(9-méthoxy-5,6,11-triméthyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl)-N,N-
- 25 diméthyl-propane-1,3-diamine,
- la N'-(2-méthoxy-6,11-diméthyl-5H-benzo[b]carbazol-10-yl)-N,N-diméthyl-propane-1,3-diamine,
- l'ester de l'acide 9-hydroxy-5-méthyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl acétique,
- le 1-(3-diméthylamino-propylamino)-5-méthyl-6H-pyrido[4,6-b]carbazol-9-ol,
- 30 • la 9-méthoxy-5-méthyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazole-1-carbaldéhyde oxime,
- la N'-(9-méthoxy-5-méthyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-11-yl)-N,N-diméthyl-propane-1,3-diamine,

- la N,N-diéthyl-N'-(9-méthoxy-5-méthyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl)-propane-1,3-diamine,
- l'allyl-(9-méthoxy-5,11-diméthyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl)-amine,
- la N\*1\*,N\*1\*-Diéthyl-N\*4\*-(9-méthoxy-5-méthyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl)-pentane-1,4-diamine,
- 5 • l'iodure de 9-méthoxy-1-[6-(9-méthoxy-5-méthyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-ylamino)-hexylamino]-2,5-diméthyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-2-ium,
- la {3-[4(3-amino-propyl)-pipérazin-1-yl]-propyl}-9-méthoxy-5-méthyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl)-amine.
- 10 • la (3-imidazol-1-yl-propyl)-9-méthoxy-5-méthyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl)-amine,
- la (9-méthoxy-5,6-diméthyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl)-(2,2,6,6-tétraméthyl-pipéridin-4-yl)-amine,
- l'acide N-éthyl-N-[3-(9-méthoxy-5,11-diméthyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-ylamino)-propyl]-succinamique,
- 15 • le 5,11-diméthyl-1-(3-méthyl-butylamino)-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-9-ol,
- la N'-(9-benzyloxy-6-méthoxyméthyl-5-méthyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl)-N,N-diéthyl-propane-1,3-diamine,
- le 1-(3-diéthylamino-propylamino)-6-méthoxyméthyl-5-méthyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-9-ol,
- 20 • le 9-méthoxy-5-méthyl-4,6-dihydro-3H-pyrido[4,3-b]carbazole,
- le 1-(3-diéthylamino-propylamino)-5,6,11-triméthyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-9-ol,
- la N\*1\*-(9-méthoxy-5,11-diméthyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl)-propane-1,3-diamine
- 25

un échantillon de substance...

...

...

- l'acide N-éthyl-N-[3-(6-méthyl-5H-pyrido[3',4':4,5]pyrrolo[2,3-g]isoquinolin-10-ylamino)-propyl]-succinamique,
- le 2-[(2-hydroxy-éthyl)-[3-(6-méthyl-5H-pyrido[3',4':4,5]pyrrolo[2,3-g]isoquinolin-10-ylamino)propyl]-amino]-éthanol,
- 5 • la N,N-diéthyl-N'-(6-méthyl-5H-pyrido[3',4':4,5]pyrrolo[2,3-g]isoquinolin-10-yl)-éthane-1,2-diamine,
- la N\*1'-(6-méthyl-5H-pyrido[3',4':4,5]pyrrolo[2,3-g]isoquinolin-10-yl)-propane-1,3-diamine.

Dans un mode de réalisation encore plus préférentiel selon l'invention, le  
10 composé utilisé est choisi dans le groupe constitué par :

- la N'-(2-méthoxy-6,11-diméthyl-5H-benzo[b]carbazol-10-yl)-N,N-diméthylpropane-1,3-diamine,
- la 10-chloro-2,6-diméthyl-2H-pyrido[3',4':4,5]pyrrolo[2,3-g]isoquinoline,
- la {3-[4(3-amino-propyl)-pipérazin-1-yl]-propyl}-9-méthoxy-5-méthyl-6H-  
15 pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl)-amine.

Dans un mode de réalisation selon l'invention, ledit médicament comprend également un excipient permettant de formuler les composés selon la formule I et ledit médicament se présente sous forme solide ou liquide pour être préparé et administré par voie intraveineuse.

20 Les composés selon l'invention seront administrés de préférence par voie intraveineuse à une concentration de 80-100 mg/m<sup>2</sup> (cf. Paoletti C. *et al.*, Antitumor activity, pharmacology, and toxicity of ellipticine, ellipticinium, and 9-hydroxy derivatives : preliminary clinical trials of 2-methyl-9-hydroxy ellipticinium (NSC 264-137) in recent results in Cancer Research, vol 74, pp108-123, 1980, G. Mathé  
25 and F.M. Muggia, Eds (Springer-Verlag Pbl). La concentration sera choisie par l'homme du métier selon l'organe ou tissu à traiter, l'état d'avancement de la maladie, et le mode de ciblage utilisé.

- l'acide N-éthyl-N-[3-(6-méthyl-5H-pyrido[3',4':4,5]pyrrolo[2,3-g]isoquinolin-10-ylamino)-propyl]-succinamique,
- le 2-[(2-hydroxy-éthyl)-[3-(6-méthyl-5H-pyrido[3',4':4,5]pyrrolo[2,3-g]isoquinolin-10-ylamino)propyl]-amino]-éthanol,
- 5 • la N,N-diéthyl-N'-(6-méthyl-5H-pyrido[3',4':4,5]pyrrolo[2,3-g]isoquinolin-10-yl)-éthane-1,2-diamine,
- la N\*1\*-(6-méthyl-5H-pyrido[3',4':4,5]pyrrolo[2,3-g]isoquinolin-10-yl)-propane-1,3-diamine.

10 Dans un mode de réalisation encore plus préférentiel selon l'invention, le composé utilisé est choisi dans le groupe constitué par :

- la N'-(2-méthoxy-6,11-diméthyl-5H-benzo[b]carbazol-10-yl)-N,N-diméthylpropane-1,3-diamine,
- la 10-chloro-2,6-diméthyl-2H-pyrido[3',4':4,5]pyrrolo[2,3-g]isoquinoline,
- 15 • la {3-[4(3-amino-propyl)-pipérazin-1-yl]-propyl}-9-méthoxy-5-méthyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl)-amine.

20 Dans un mode de réalisation préférentiel selon l'invention, les maladies génétiques résultant de l'altération des processus d'épissage sont notamment le syndrome de frasier, la démence fronto-temporale, le parkinson lié au chromosome 17, l'encéphalopathie, la mucoviscidose atypique, des neuropathologies, et certains cancers dans lesquelles le processus global de l'épissage est affecté.

Dans un mode de réalisation selon l'invention, ledit médicament comprend également un excipient permettant de formuler les composés selon la formule I et ledit médicament se présente sous forme solide ou liquide pour être préparé et administré par voie intraveineuse.

25 Les composés selon l'invention seront administrés de préférence par voie intraveineuse à une concentration de 80-100 mg/m<sup>2</sup> (cf. Paoletti C. *et al.*, Antitumor

### Description des figures :

Figure 1 : Analyse des produits d'épissage de l'ARN pré-messager Minx obtenus in vitro en présence de différents composés. La structure des différents produits d'épissage est indiquée. Le trait représente l'intron soit sous forme linéaire ou en lasso (\*). Les rectangles représentent les deux exons du Minx.

Figure 2 : Analyse des produits d'épissage de l'ARN pré-messager M3S1 obtenus in vitro en présence de différents composés. La structure des différents produits d'épissage est indiquée. Les rectangles sont les exons. La partie noire du rectangle représente l'ESE. Le trait représente l'intron soit sous forme linéaire ou en lasso (\*).

Figure 3 : Analyse de la formation des complexes d'épissage sur l'ARN pré-messager M3S1 en présence de différents composés.

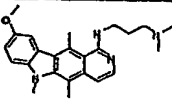
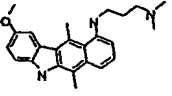
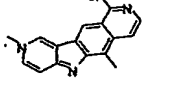
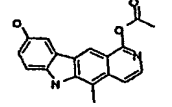
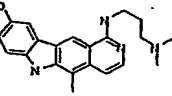
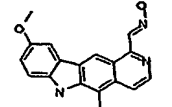
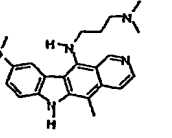
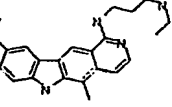
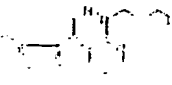
Figure 4 : (A) Structure du transgène et les deux types de transcrits produits par épissage alternatif. Les flèches indiquent la position des amorces utilisées pour la PCR.

(B) Analyse en gel d'agarose 2% des produits de PCR. M indique les marqueurs ADN correspondant à des multiples de 100 paires de bases (pistes 1 et 6). Les PCR sont effectuées sur des ARNs issues de cellules non traitées (pistes 2 et 3), traitées par 1  $\mu$ M du composé C<sub>27</sub> (piste 4) ou par 1  $\mu$ M du composé C<sub>14</sub> (piste 5).

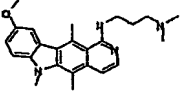
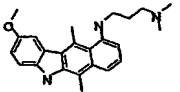
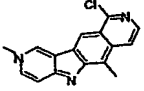
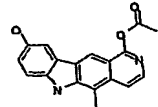
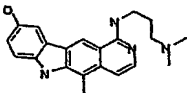
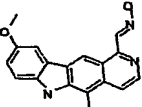
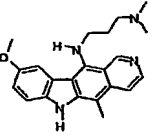
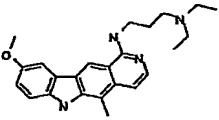
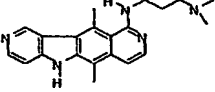
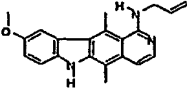
### Exemple 1 : Inhibition in vitro de l'épissage de deux types de pré-ARNm modèles

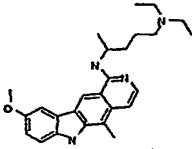
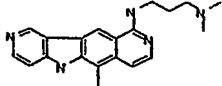
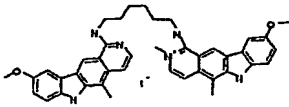
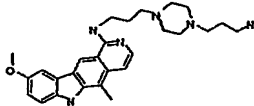
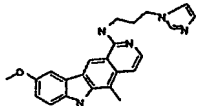
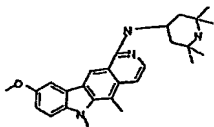
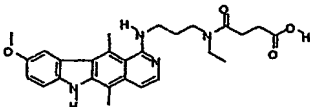
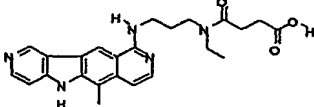
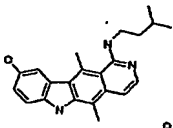
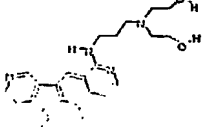
Les composés présentées dans les Tableaux 1 et 2 ci-après ont été testés dans des gammes de concentration de 1  $\mu$ M, 10  $\mu$ M et 100  $\mu$ M, et sont sélectionnés dans un premier temps sur la base de leur capacité d'inhiber, in vitro, l'épissage de deux types de pré-ARNm modèles.

Tableau 1 :

CODE des MOLECULES	FORMULE CHIMIQUE	NOMENCLATURE
C1		N-(9-Methoxy-5,6,11-trimethyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl)-N,N-dimethylpropane-1,3-diamine
C2		N-(2-Methoxy-6,11-dimethyl-5H-benzof[b]carbazol-10-yl)-N,N-dimethylpropane-1,3-diamine
C3		10-Chloro-2,6-dimethyl-2H-pyrido[3',4':4,5]pyrrolo[2,3-g]isoquinoline
C4		Acetic acid 9-hydroxy-5-methyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl ester
C5		1-(3-Dimethylamino-propylamino)-5-methyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-9-ol
C6		9-Methoxy-5-methyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-carbaldehyde oxime
C7		N-(9-Methoxy-5-methyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-11-yl)-N,N-dimethylpropane-1,3-diamine
C8		N,N-Diethyl-N'-(9-methoxy-5-methyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl)-propane-1,3-diamine
C9		N-(9-Methoxy-5-methyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl)-N,N-dimethylpropane-1,3-diamine

**Tableau 1 :**

	CODE des MOLECULES	FORMULE CHIMIQUE	NOMENCLATURE
5	C1		N'-(9-Methoxy-5,6,11-trimethyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl)-N,N-dimethylpropane-1,3-diamine
	C2		N'-(2-Methoxy-6,11-dimethyl-5H-benzoc[5,6]carbazol-10-yl)-N,N-dimethylpropane-1,3-diamine
10	C3		10-Chloro-2,6-dimethyl-2H-pyrido[3',4':4,5]pyrrolo[2,3-g]isoquinoline
	C4		Acetic acid 9-hydroxy-5-methyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl ester
15	C5		1-(3-Dimethylamino-propylamino)-5-methyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-9-ol
	C6		9-Methoxy-5-methyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-carbaldehyde oxime
20	C7		N'-(9-Methoxy-5-methyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-11-yl)-N,N-dimethylpropane-1,3-diamine
	C8		N,N-Diethyl-N'-(9-methoxy-5-methyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl)propane-1,3-diamine
25	C9		N'-(6,11-Dimethyl-5H-pyrido[3',4':4,5]pyrrolo[2,3-g]isoquinolin-10-yl)-N,N-dimethylpropane-1,3-diamine
30	C10		Allyl-(9-methoxy-5,11-dimethyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl)-amine

C11		N*1*,N*1*-Diethyl-N*4*-(9-methoxy-5-methyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl)-pentane-1,4-diamine
C12		N,N-Dimethyl-N'-(6-methyl-5H-pyrido[3',4':4,5]pyrrolo[2,3-g]isoquinolin-10-yl)-propane-1,3-diamine
C13		9-Methoxy-1-[6-(9-methoxy-5-methyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-ylamino)-hexylamino]-2,5-dimethyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-2-ium; iodide
C14		{3-[4-(3-Amino-propyl)-piperazin-1-yl]-propyl}-(9-methoxy-5-methyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl)-amine
C15		(3-Imidazol-1-yl-propyl)-(9-methoxy-5-methyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl)-amine
C16		(9-Methoxy-5,6-dimethyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl)-(2,2,6,6-tetramethyl-piperidin-4-yl)-amine
C17		N-Ethyl-N-[3-(9-methoxy-5,11-dimethyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-ylamino)-propyl]-succinamic acid
C18		N-Ethyl-N-[3-(6-methyl-5H-pyrido[3',4':4,5]pyrrolo[2,3-g]isoquinolin-10-ylamino)-propyl]-succinamic acid
C19		5,11-Dimethyl-1-(3-methyl-butylamino)-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-9-ol
C20		2-[(2-Hydroxy-ethyl)-[3-(6-methyl-5H-pyrido[3',4':4,5]pyrrolo[2,3-g]isoquinolin-10-ylamino)-propyl]-amino]-ethanol

5

10

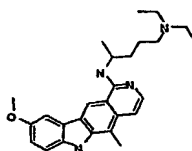
15

20

25

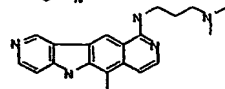
30

C11



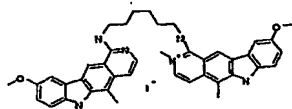
N\*1\*,N\*1\*-Diethyl-N\*4\*-(9-methoxy-5-methyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl)-pentane-1,4-diamine

C12



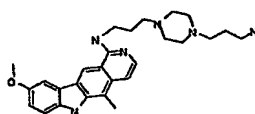
N,N-Dimethyl-N-(6-methyl-5H-pyrido[3',4':4,5]pyrrolo[2,3-g]isoquinolin-10-yl)-propane-1,3-diamine

C13



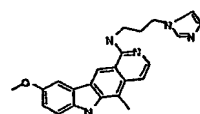
9-Methoxy-1-[6-(9-methoxy-5-methyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-ylamino)-hexylamino]-2,5-dimethyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-2-ium; iodide

C14



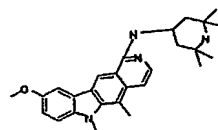
{3-[4-(3-Amino-propyl)-piperazin-1-yl]-propyl}-(9-methoxy-5-methyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl)-amine

C15



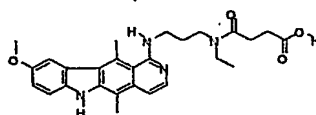
(3-Imidazol-1-yl-propyl)-(9-methoxy-5-methyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl)-amine

C16



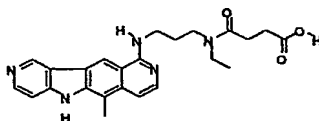
(9-Methoxy-5,6-dimethyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl)-(2,2,6,6-tetramethyl-piperidin-4-yl)-amine

C17



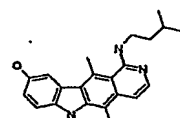
N-Ethyl-N-[3-(9-methoxy-5,11-dimethyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-ylamino)-propyl]-succinamic acid

C18



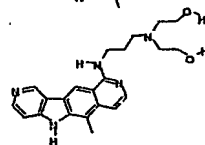
N-Ethyl-N-[3-(6-methyl-5H-pyrido[3',4':4,5]pyrrolo[2,3-g]isoquinolin-10-ylamino)-propyl]-succinamic acid

C19



5,11-Dimethyl-1-(3-methyl-butylamino)-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-9-ol

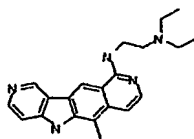
C20



2-((2-Hydroxy-ethyl)-(3-(6-methyl-5H-pyrido[3',4':4,5]pyrrolo[2,3-g]isoquinolin-10-ylamino)-propyl)-amino)-ethanol

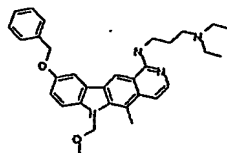
12

C21



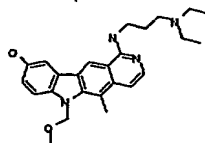
N,N-Diethyl-N'-(6-methyl-5H-pyrido[3',4':4,5]pyrrolo[2,3-g]isoquinolin-10-yl)-ethane-1,2-diamine

C22



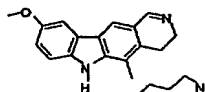
N'-(9-Benzyloxy-6-methoxymethyl-5-methyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl)-N,N-diethyl-propane-1,3-diamine

C23



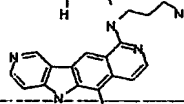
1-(3-Diethylamino-propylamino)-6-methoxymethyl-5-methyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-9-ol

C24



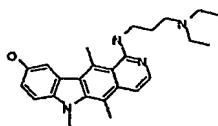
9-Methoxy-5-methyl-4,6-dihydro-3H-pyrido[4,3-b]carbazole

C25



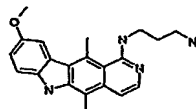
N\*1'-(6-Methyl-5H-pyrido[3',4':4,5]pyrrolo[2,3-g]isoquinolin-10-yl)-propane-1,3-diamine

C26



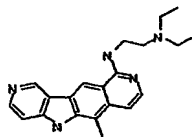
1-(3-Diethylamino-propylamino)-5,6,11-trimethyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-9-ol

C27



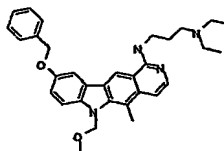
N\*1'-(9-Methoxy-5,11-dimethyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl)-propane-1,3-diamine

C21



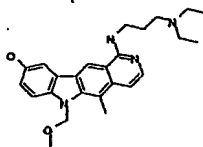
N,N-Diethyl-N'-(6-methyl-5H-pyrido[3',4':4,5]pyrrolo[2,3-g]isoquinolin-10-yl)-ethane-1,2-diamine

C22



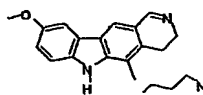
N'-(9-Benzyloxy-6-methoxymethyl-5-methyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl)-N,N-diethyl-propane-1,3-diamine

C23



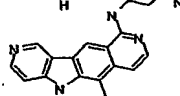
1-(3-Diethylamino-propylamino)-6-methoxymethyl-5-methyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-9-ol

C24



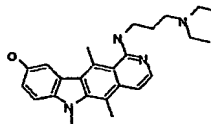
9-Methoxy-5-methyl-4,8-dihydro-3H-pyrido[4,3-b]carbazole

C25



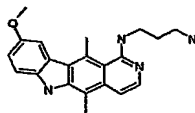
N\*1'-(6-Methyl-5H-pyrido[3',4':4,5]pyrrolo[2,3-g]isoquinolin-10-yl)-propane-1,3-diamine

C26



1-(3-Diethylamino-propylamino)-5,6,11-trimethyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-9-ol

C27



N\*1'-(9-Methoxy-5,11-dimethyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl)-propane-1,3-diamine

Tableau 2 :

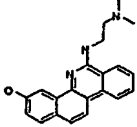
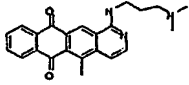
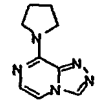
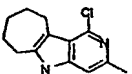
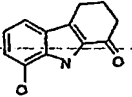
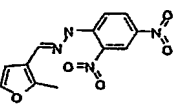
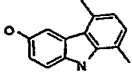
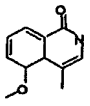
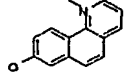
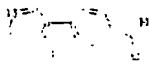
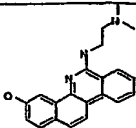
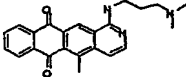
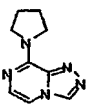
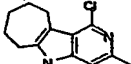
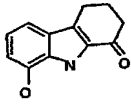
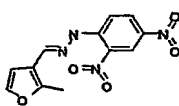
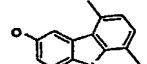
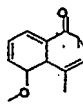
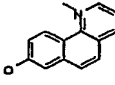
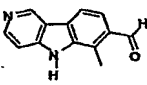
CODE des MOLECULES	FORMULE CHIMIQUE	NOMENCLATURE
A		6-(2-Dimethylamino-ethylamino)-benzo[c]phenanthridin-3-ol
B		1-(3-Dimethylamino-propylamino)-5-methyl-naphtho[2,3-g]isoquinoline-8,11-dione
D		8-Pyrrolidin-1-yl-[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyrazine
E		4-Chloro-2-methyl-5,6,7,8,9,10-hexahydro-3,10-diaza-benzo[a]azulene
F		8-Hydroxy-2,3,4,9-tetrahydro-carbazol-ol-1-one
G		N-(2,4-Dinitro-phenyl)-N'-(2-methyl-furan-3-ylmethylene)-hydrazine
H		5,8-Dimethyl-9H-carbazol-3-ol
I		5-Methoxy-4-methyl-4a,5-dihydro-2H-isoquinolin-1-one
J		1-Methyl-benzo[h]quinolin-8-ol
K		6-Methyl-4,5,6,7-tetrahydro-2H-pyrido[2,1-b]pyridin-3-ol

Tableau 2 :

	CODE des MOLECULES	FORMULE CHIMIQUE	NOMENCLATURE
5	A		6-(2-Dimethylamino-ethylamino)-benzo[c]phenanthridin-3-ol
	B		1-(3-Dimethylamino-propylamino)-5-methyl-naphtho[2,3-g]isoquinoline-6,11-dione
10	D		8-Pyrrolidin-1-yl-[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyrazine
	E		4-Chloro-2-methyl-5,6,7,8,9,10-hexahydro-3,10-diaza-benzo[a]azulene
15	F		8-Hydroxy-2,3,4,9-tetrahydro-carbazol-1-one
	G		N-(2,4-Dinitro-phenyl)-N'-(2-methyl-furan-3-yl(methylene)-hydrazine
20	H		5,8-Dimethyl-9H-carbazol-3-ol
	I		5-Methoxy-4-methyl-4a,5-dihydro-2H-isoquinolin-1-one
25	J		1-Methyl-benzo[h]quinolin-8-ol
30	K		6-Methyl-5H-pyrido[4,3-b]indole-7-carbaldehyde

Le Tableau 1 représente les composés selon l'invention et le Tableau 2 les composés testés ayant une structure chimique différente des composés selon l'invention.

5 Le premier type de pré-messager correspond au Minx dérivé d'un transcrit d'adénovirus et dont l'épissage est constitutif (Zillmann, M. et al. (1988), Gel electrophoretic isolation of splicing complexes containing U1 small nuclear ribonucleoprotein particles. Mol.Cell Biol. 8, 814-821). Ce pré-messager est obtenu sous forme radioactive par transcription in vitro selon un protocole fourni par la  
10 société Promega en utilisant 1 µg de plasmide linéarisé, 20 unités de la polymérase SP6 et 5 µM [ $\alpha$ -32P] UTP dans un volume de réaction de 25 µl.

50 fmoles de ce transcrit sont utilisées pour des réactions d'épissage standard contenant dans 20 µl : 10 mM Triéthanolamine pH 7,9 ; 50 mM KCl, 0,1 mM  
EDTA ; 10% glycérol ; 0,5 mM DTT ; 20 mM créatine phosphate ; 2,5 mM ATP ;  
15 2,5 mM MgCl<sub>2</sub> et 6% polyvinylalcool. On laisse incubé les réactions pendant 1h à 30°C.

Pour tester l'effet des composés selon l'invention, 1 µl de la dilution adéquate de chaque composé est ajouté au début de la réaction sous forme d'une solution soluble dans du DMSO 10%.

20 Les ARNs produits au cours de la réaction d'épissage sont extraits, analysés sur un gel dénaturant de polyacrylamide 7% puis révélés par autoradiographie. Un exemple de l'inhibition de l'épissage du transcrit Minx obtenu avec 10 µM du composé C<sub>2</sub> (piste 4) est présenté sur la Figure 1.

25 Le second type de pré-messager M3S1 est dérivé du gène de la Béta-Globine humaine (Labourier, E. et al. (1999), Antagonism between RSE1 and SR proteins for human splice site recognition in vitro and Drosophila splicing in vivo. *Genes Dev.* 13, 100-110).

Un exemple de l'inhibition de l'épissage de M3S1 obtenu avec 10  $\mu$ M des composés C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub> et C<sub>14</sub> (pistes 4, 5 et 12) est présenté sur la Figure 2.

L'activité des produits a également été testée dans des réactions de formation de complexes d'épissage *in vitro* (Figure 3) comme décrit dans Pilch B. et al. (Specific inhibition of serine- and arginine-rich splicing factors phosphorylation, spliceosome assembly, and splicing by the antitumor drug NB-506. Cancer Res.2001. 61, 6876-6884).

Les réactions d'épissage du transcrit M3S1 en présence des différents composés selon l'invention réalisées dans les mêmes conditions que celles décrites pour la Figure 1 sont arrêtées après 30 minutes d'incubation par addition d'héparine et de glycérol à une concentration finale de 1 mg/ml et 15%, respectivement. Les complexes d'épissage sont séparés sur un gel d'acrylamide 5% non dénaturant et sont révélés par autoradiographie.

La Figure 3 montre un exemple d'inhibition de la formation des complexes d'épissage A et B au détriment de l'apparition de complexes abortifs pour les composés C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub> et C<sub>14</sub> (pistes 3, 4 et 9), utilisés à une concentration de 50  $\mu$ M.

Tous les composés représentés dans le Tableau 1 sont capables d'inhiber la formation des complexes d'épissage du transcrit M3S1 à une concentration comprise entre 10  $\mu$ M et 50  $\mu$ M.

#### Exemple 2 : Inhibition *in vivo* de l'épissage ESE-dépendant de l'ARNm de la GFP (Green Forest Protein)

Afin de tester l'efficacité des dérivés ellipticines *ex vivo*, des lignées cellulaires HeLa de fibroblastes ont été établies exprimant de façon stable un transgène correspondant à la GFP dont la séquence a été interrompue par une séquence ESE flanquée de deux introns identiques du gène de la Béta-Globine humaine décrit dans l'exemple 1 (voir Fig. 4A).

Pour détecter les ARN messagers issus de l'épissage de ce gène, la technique de RT-PCR a été utilisée avec des amorces dans la séquence GFP de part et d'autre de l'ESE et les produits de PCR ont été analysés sur gel d'agarose.

Dans presque toutes les lignées établies, un seul fragment de 250 paires de

bases (pb) est amplifié par PCR (Fig. 5A, pistes 2 et 3) et il correspond à un ARN messager qui a inclus l'ESE entre les deux séquences GFP.

Le résultat indique que l'ESE a un effet dominant et l'ARN messager produit après épissage contient les deux parties de la GFP interrompues par l'ESE (Fig. 4A, GFP-ESE-GFP).

A l'inverse, le traitement des cellules par des dérivés d'ellipticine C<sub>28</sub> (piste 4) et C<sub>14</sub> (piste 5) fait apparaître un fragment de 194 pb, au détriment du fragment 250 pb, qui ne contient plus de séquence ESE entre les séquences GFP, démontrant ainsi que certains dérivés d'ellipticine selon l'invention peuvent supprimer l'effet des ESE dans les cellules.

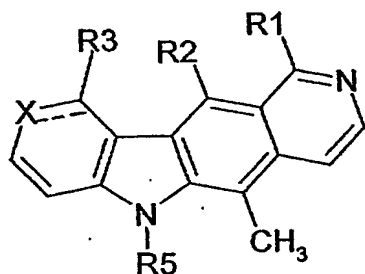
Tous les autres composés représentés dans le Tableau 1 ont été testé à une concentration au moins égale à 1 µM et se sont avérés inefficaces dans ce test à cette concentration puisqu'ils n'ont pas induit un changement dans le profil d'épissage du transgène GFP-ESE.

Néanmoins, on peut signaler que l'ESE du transgène GFP-ESE utilisé dans les expériences décrites ci-dessus est spécifique de la protéine SR SF2/ASF et il est tout à fait probable que les autres composés selon l'invention représentés dans le Tableau 1 soient capables d'influencer l'épissage contrôlé par d'autres types d'ESE spécifiques des autres protéines SR (SC35, 9G8, SRp55, SRp40 ou SRp75). La présente invention englobe donc l'utilisation des composés dérivés d'ellipticine et/ou d'aza-ellipticine pour le traitement des maladies génétiques résultant de l'altération des processus d'épissage, soit consécutifs, soit dépendants de séquences régulatrices ESE, ISE, ESS ou ISS.

## REVENDICATIONS

1. Utilisation de composés dérivés d'ellipticine et/ou d'aza-ellipticine correspondant à la formule I suivante :

5



Formule I

dans laquelle :

10 X représente N, CR4 ou NR4,

----- représente une double liaison lorsque X représente CR4 ou N, et représente une simple liaison lorsque X représente NR4,

R4 représente un atome d'hydrogène, un groupement alkyle de C1 à C6, un groupement hydroxyle ou un atome d'oxygène substitué par un groupement alkyle de C1 à C3 lui-même éventuellement substitué par un groupement phényle,

15

R1 représente :

- un atome d'hydrogène ou d'halogène sélectionné dans le groupe F, Cl, Br et I,

ou

- un groupement -N-R6R7,

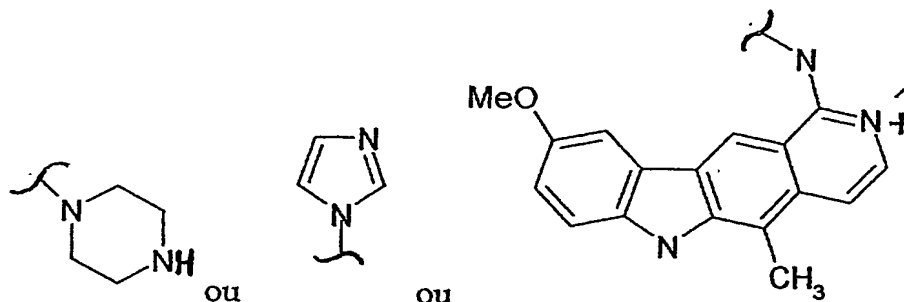
20 où R6 représente un atome d'hydrogène ou un groupement alkyle de C1 à C3, et

R7 représente :

- un cycle en C6, saturé ou insaturé, comportant éventuellement un atome d'azote, et éventuellement substitué par un ou plusieurs groupements alkyles en C1 à C3, ou

25

- un groupement alkyle de C1 à C6 linéaire éventuellement substitué par un groupement tel que :



- ledit groupement étant éventuellement substitué par un groupement alkyle en C1 à
- 5 C3 lui-même éventuellement substitué par un groupement amine,
- un groupement -NH-R8  
où R8 représente un groupement alkyle-Y-R9R10  
où le groupement alkyle représente un groupement de C1 à C4 éventuellement
- 10 insaturé et Y représente un atome de carbone ou d'azote et R9 et R10  
représentent chacun indépendamment un atome d'hydrogène ou un  
groupement alkyle en C1 à C4 éventuellement substitué par un ou plusieurs  
groupements hydroxyle et/ou oxo, ou
- un groupement -C=N-OH ou -O-C(=O)(CH<sub>3</sub>),
- R2 représente un atome d'hydrogène, un groupement méthyle ou un groupement -
- 15 NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>,
- R3 et R5 représentent chacun indépendamment l'un de l'autre un atome  
d'hydrogène ou un groupement méthyle ou méthoxyméthyle, et
- les sels pharmaceutiquement acceptables desdits composés, leurs isomères et/ou  
mélanges de ceux-ci,
- 20 pour la préparation d'un médicament utile pour le traitement de maladies génétiques  
résultant de l'altération des processus d'épissage.

3. Utilisation selon les revendications 1 et 2 caractérisée en ce que les processus d'épissage sont soit constitutifs, soit dépendants de séquences régulatrices ESE.
4. Utilisation selon les revendications précédentes caractérisée en ce que lorsque X
- 5 représente CR4,  
 R1 représente un groupement  $-N-HR7$  où R7 représente une pipéridine, ou un groupement  $-N-R8$  où R8 représente un groupement propyl-N-R9R10, ou un groupement  $-C=N-OH$  ou  $-O-C(=O)(CH_3)$ ,  
 R2 représente un groupement méthyle,
- 10 R3 représente un atome d'hydrogène,  
 R4 représente un groupement hydroxyle ou un atome d'oxygène substitué par un groupement méthyle lui-même éventuellement substitué par un groupement phényle, et  
 R5 représente un atome d'hydrogène ou un groupement méthyle.
- 15 5. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 3 caractérisée en ce que lorsque X représente N,  
 R1 représente un atome de chlore ou un groupement  $-N-R8$  où R8 représente un groupement propyl-N-R9R10,
- 20 R2 représente un atome d'hydrogène ou un groupement méthyle, et  
 R3 et R5 représentent un atome d'hydrogène, et  
 R4 représente un atome d'hydrogène ou un groupement méthyle.
6. Utilisation selon les revendications 1 et 4 caractérisée en ce que le composé est
- 25 choisi dans le groupe constitué par :
- la N'-(9-méthoxy-5,6,11-triméthyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl)-N,N-diméthyl-propane-1,3-diamine,
  - la N'-(2-méthoxy-6,11-diméthyl-5H-benzo[b]carbazol-10-yl)-N,N-diméthyl-propane-1,3-diamine,
  - 30 • l'ester de l'acide 9-hydroxy-5-méthyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl acétique,
  - le 1-(3-diméthylamino-propylamino)5-méthyl-6H-pyrido[4,6-b]carbazol-9-ol,
  - la 9-méthoxy-5-méthyl-6H-pyrido[4,3-b] carbazole-1-carbaldéhyde oxime,

- la N'(9-méthoxy-5-méthyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-11-yl)-N,N-diméthyl-propane-1,3-diamine,
- la N,N-diéthyl-N'-(9-méthoxy-5-méthyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl)-propane-1,3-diamine,
- 5 • l'allyl-(9-méthoxy-5,11-diméthyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl)-amine,
- la N\*1\*,N\*1\*-Diéthyl-N\*4\*-(9-méthoxy-5-méthyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl)-pentane-1,4-diamine,
- l'iodure de 9-méthoxy-1-[6-(9-méthoxy-5-méthyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-ylamino)-hexylamino]-2,5-diméthyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-2-ium,
- 10 • la {3-[4(3-amino-propyl)-pipérazin-1-yl]-propyl}-9-méthoxy-5-méthyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl)-amine.
- la (3-imidazol-1-yl-propyl)-9-méthoxy-5-méthyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl)-amine,

---

- la (9-méthoxy-5,6-diméthyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl)-(2,2,6,6-tétraméthyl-pipéridin-4-yl)-amine,
- 15 • l'acide N-éthyl-N-[3-(9-méthoxy-5,11-diméthyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-ylamino)-propyl]-succinamique,
- le 5,11-diméthyl-1-(3-méthyl-butylamino)-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-9-ol,
- la N'-(9-benzyloxy-6-méthoxyméthyl-5-méthyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl)-N,N-diéthyl-propane-1,3-diamine,
- 20 • le 1-(3-diéthylamino-propylamino)-6-méthoxyméthyl-5-méthyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-9-ol,
- le 9-méthoxy-5-méthyl-4,6-dihydro-3H-pyrido[4,3-b]carbazole,
- le 1-(3-diéthylamino-propylamino)-5,6,11-triméthyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-9-ol,
- 25 • le 1-(3-diéthylamino-propylamino)-5,6,11-triméthyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-9-ol.

- la N'-(6,11-diméthyl-5H-pyrido[3',4':4,5]pyrrolo[2,3-g]isoquinolin-10-yl)-N,N-diméthyl-propane-1,3-diamine,
- la N,N-diéméthyl-N'-(6-méthyl-5H-pyrido[3',4':4,5]pyrrolo[2,3-g]isoquinolin-10-yl)-propane-1,3-diamine,
- 5 • l'acide N-éthyl-N-[3-(6-méthyl-5H-pyrido[3',4':4,5]pyrrolo[2,3-g]isoquinolin-10-ylamino)-propyl]-succinamique,
- le 2-[(2-hydroxy-éthyl)-[3-(6-méthyl-5H-pyrido[3',4':4,5]pyrrolo[2,3-g]isoquinolin-10-ylamino)propyl]-amino]-éthanol,
- la N,N-diéthyl-N'-(6-méthyl-5H-pyrido[3',4':4,5]pyrrolo[2,3-g]isoquinolin-10-yl)-éthane-1,2-diamine,
- 10 • la N\*1'-(6-méthyl-5H-pyrido[3',4':4,5]pyrrolo[2,3-g]isoquinolin-10-yl)-propane-1,3-diamine.

8. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que le composé est choisi dans le groupe constitué par :

- la N'-(2-méthoxy-6,11-diméthyl-5H-benzo[b]carbazol-10-yl)-N,N-diméthyl-propane-1,3-diamine,
- la 10-chloro-2,6-diméthyl-2H-pyrido[3',4':4,5]pyrrolo[2,3-g]isoquinoline,
- la {3-[4(3-amino-propyl)-pipérazin-1-yl]-propyl}-9-méthoxy-5-méthyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-yl)-amine.
- 20

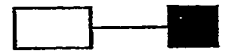
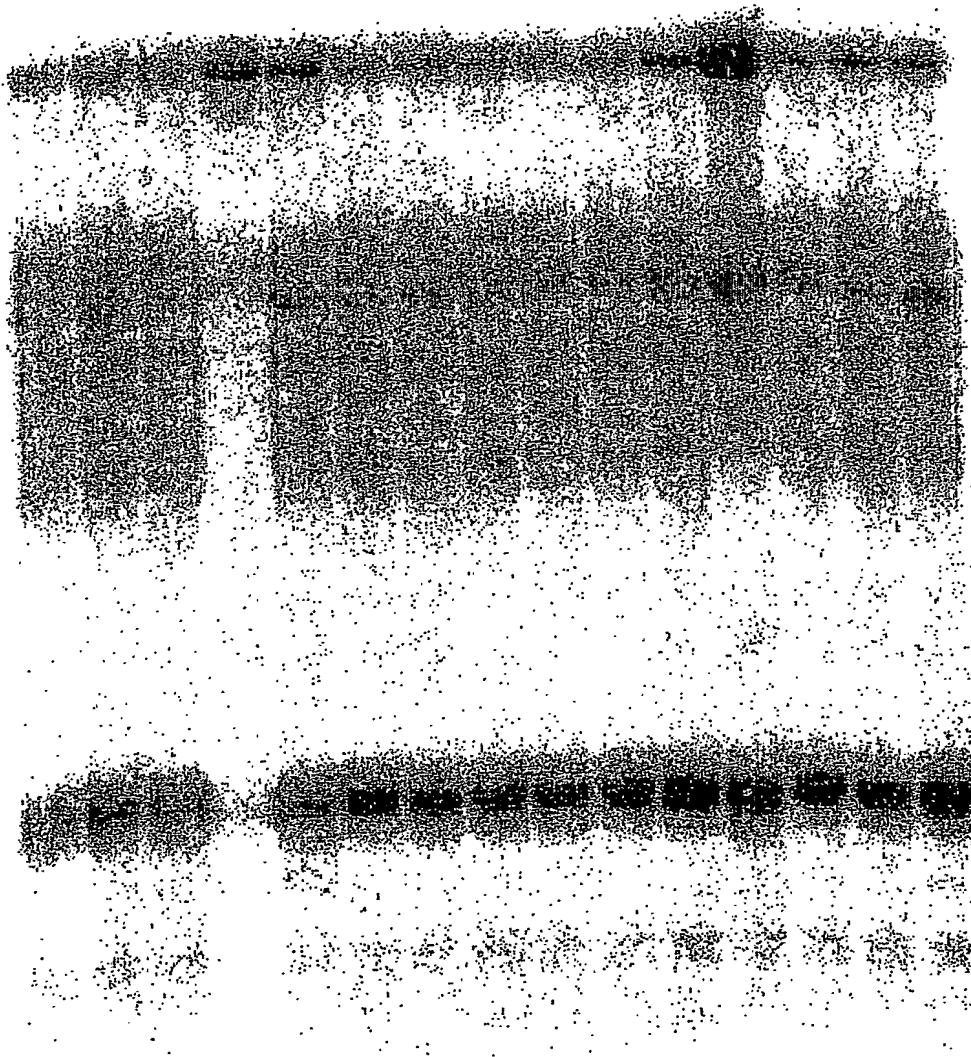
9. Utilisation selon la revendication 1 caractérisée en ce que les maladies génétiques résultant de l'altération des processus d'épissage sont notamment le syndrome de frasier, la démence fronto-temporale, le parkinson lié au chromosome 17, l'encéphalopathie, la mucoviscidose atypique, des neuropathologies, et certains cancers dans lesquelles le processus global de l'épissage est affecté.

10. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que ledit médicament comprend également un excipient permettant de formuler les composés selon la formule I.

11. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que ledit médicament se présente sous forme solide ou liquide pour être préparé et administré par voie intraveineuse.

---

- A B C<sub>2</sub> C<sub>3</sub> D E F G H I C<sub>14</sub> J K L



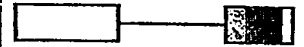
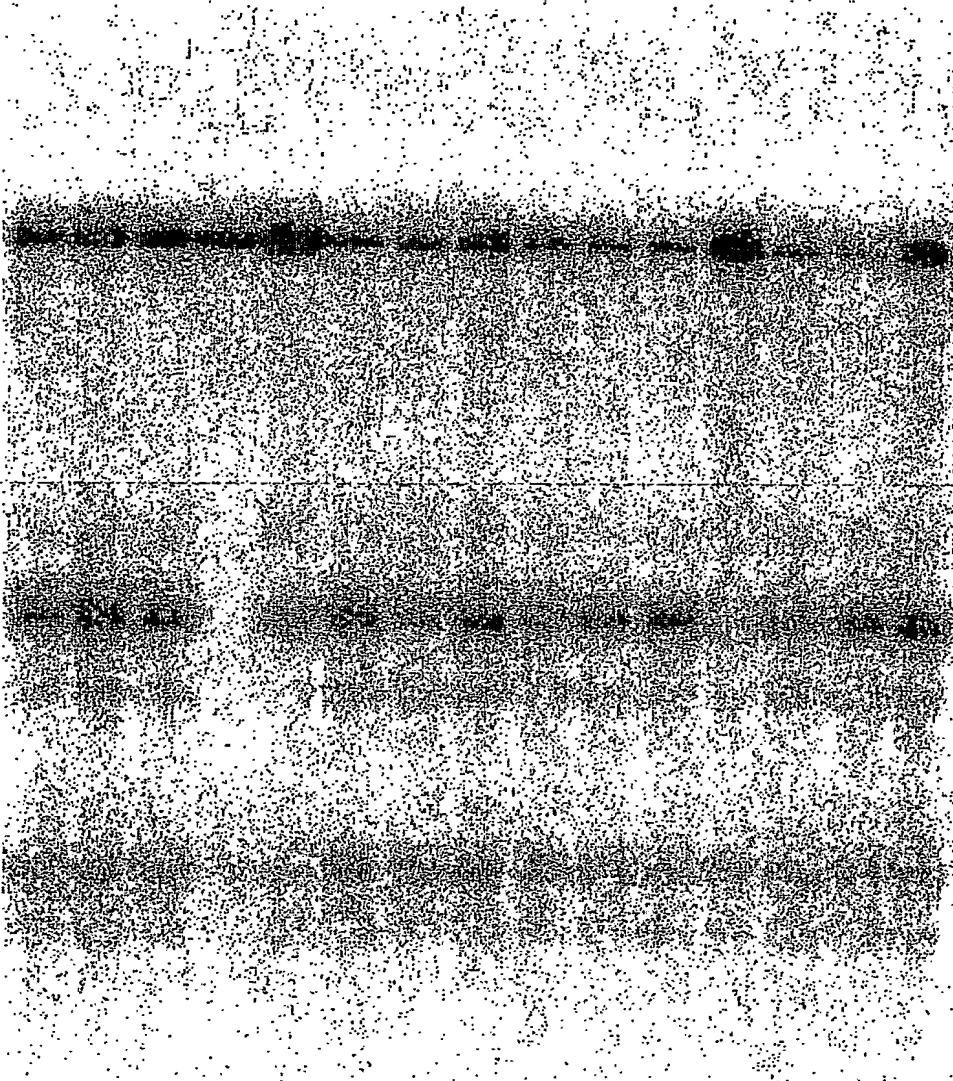
9



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15

Figure 1

- A B C<sub>2</sub> C<sub>3</sub> D E F G H I C<sub>14</sub> J K L



DP

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13

A B C<sub>2</sub> C<sub>3</sub> D E H I C<sub>14</sub> J

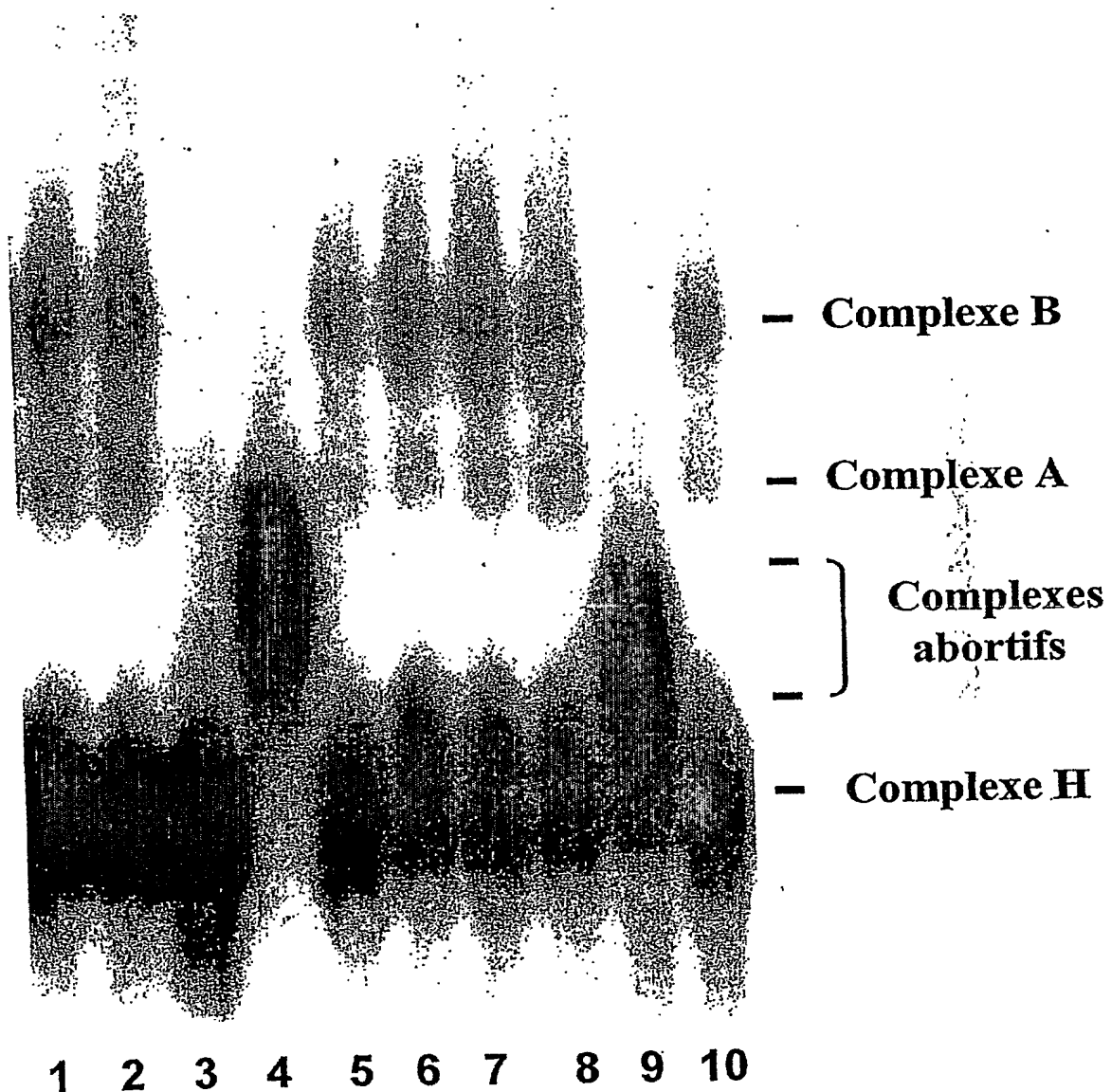
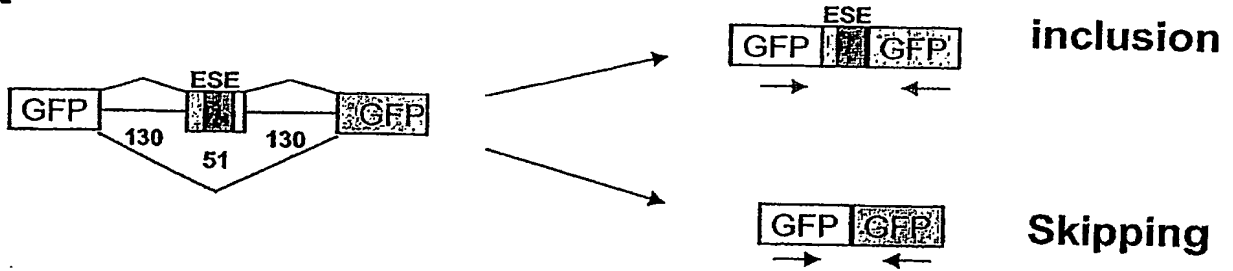
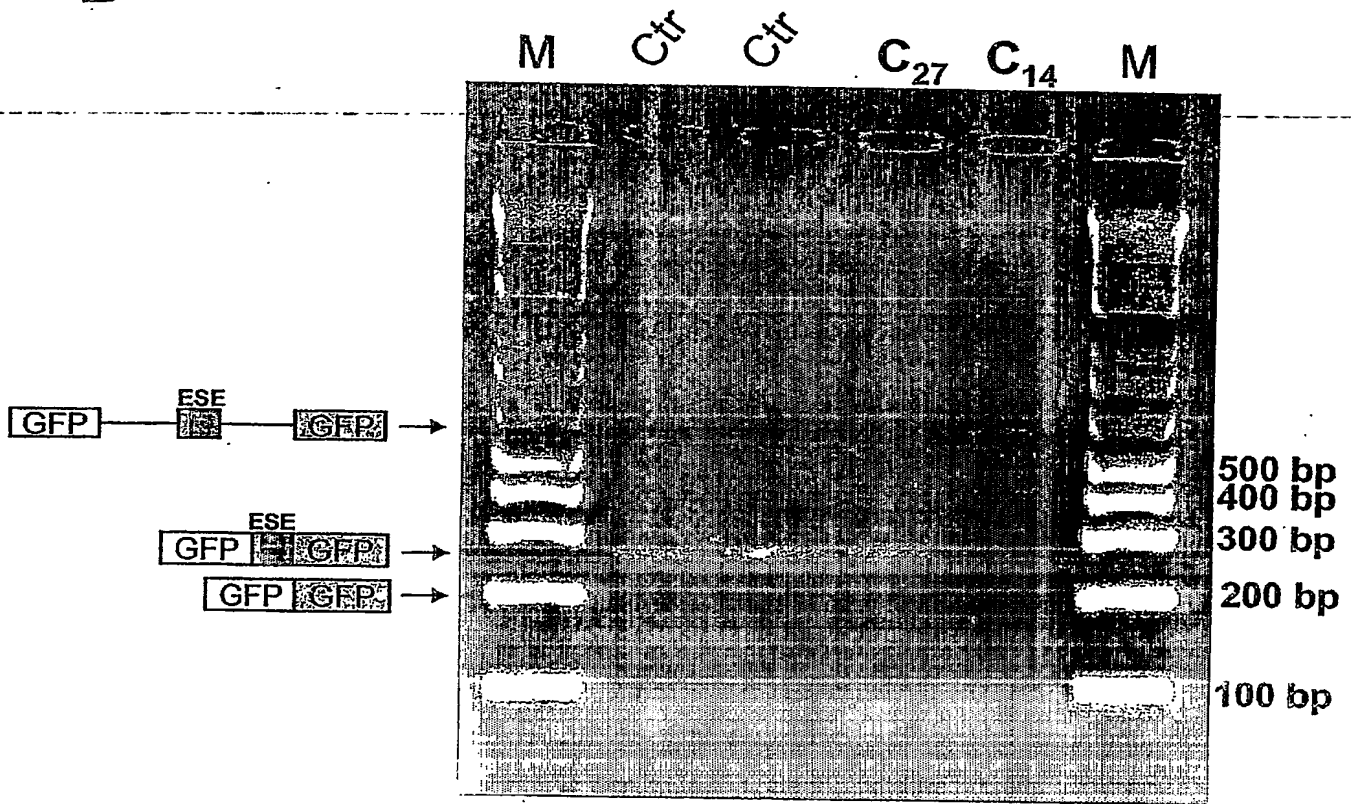


Figure 3

**A**



**B**



DÉPARTEMENT DES BREVETS

26 bis, rue de Saint Pétersbourg  
75800 Paris Cedex 08

Téléphone : 33 (1) 53 04 53 04 Télécopie : 33 (1) 42 94 86 54

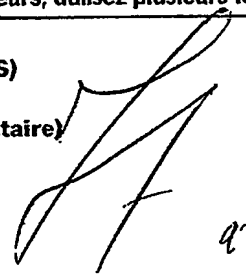
**DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S)** Page N° 1...1...

(À fournir dans le cas où les demandeurs et les inventeurs ne sont pas les mêmes personnes)



Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 113 W / 270601

<b>Vos références pour ce dossier (facultatif)</b>		
<b>N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL</b>		240705 D21334 AD <b>0310460</b>
<b>TITRE DE L'INVENTION</b> (200 caractères ou espaces maximum)		
Utilisation de composés dérivés d'ellipticine et d'aza-ellipticine pour la préparation d'un médicament utile pour le traitement de maladies génétiques résultant de l'altération des processus d'épissage		
<b>LE(S) DEMANDEUR(S) :</b>		
CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (CNRS) : 3, rue Michel Ange 75016 PARIS - FRANCE		
UNIVERSITE MONTPELLIER II Place Eugène Bataillon, 34095 Montpellier Cedex 5 FRANCE		
<b>DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) :</b>		
<b>1</b>	Nom	
	Prénoms	TAZI Jamal
Adresse	Rue	4, rue Condorcet
	Code postal et ville	34830 CLAPIERS / FR
Société d'appartenance (facultatif)		
<b>2</b>	Nom	
	Prénoms	SORET Johann
Adresse	Rue	5, Chemin des lauzières
	Code postal et ville	34820 TEYRAN / FR
Société d'appartenance (facultatif)		
<b>3</b>	Nom	
	Prénoms	
Adresse	Rue	JEANTEUR Philippe
	Code postal et ville	16, Chemin du Rapatel 34980
Société d'appartenance (facultatif)		MONTFERRIER / FR
S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez plusieurs formulaires. Indiquez en haut à droite le N° de la page suivi du nombre de pages.		
<b>DATE ET SIGNATURE(S)</b> <b>DU (DES) DEMANDEUR(S)</b> <b>OU DU MANDATAIRE</b> (Nom et qualité du signataire)		
 04.03.2003 240705		

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**